

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Síntese de Novos Derivados Híbridos do Ácido
Acetil Salicílico (AAS)**

Thais Ramos Lima

Araraquara, 2011

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Síntese de Novos Derivados Híbridos do Ácido Acetil Salicílico (AAS)

Monografia submetida à coordenação do
Curso de Graduação em Farmácia e
Bioquímica da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Araraquara, da
Universidade Estadual Paulista, para
obtenção do grau de Farmacêutico e
Bioquímico.

Nome: Thais Ramos Lima

Orientador: Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos

Araraquara, 2011

***"Comece fazendo o que é necessário, depois
o que é possível, e de repente você estará
fazendo o impossível".***

.

São Francisco de Assis

Dedicatória

Ao meu pai Dionisio por todo o amor, paciência e compreensão durante toda minha vida.

À minha mãe Telma (*in memoriam*) e minha avó Nilza (*in memoriam*) por todo amor depositado em mim e por todos os ensinamentos oferecidos até o último dia de suas vidas.

Ao meu avô Alberto por sua experiência e confiança.

Aos meus avós Dulcília (*in memoriam*) e Dionisio (*in memoriam*) pelo carinho e experiência.

À minha irmã Thássia por sua alegria, espontaneidade e pelo intenso laço de amizade criado entre nós ao longo da vida.

À minha tia Vânia pelo amor, dedicação e paciência.

Ao meu companheiro Renan, por todo o apoio, cumplicidade e compreensão ao longo de todos esses anos.

Aos meus amigos e colegas de laboratório que me ensinaram e me auxiliaram durante o período de estágio, em especial à minha amiga Thais.

Ao meu professor e orientador Jean pelos ensinamentos e paciência.

Aos meus amigos e familiares, muito obrigada por tudo!

Sumário

Resumo

Lista de Figuras e Esquemas

Lista de Tabelas

Lista de Espectros

Lista de Abreviaturas

1. Introdução.....	13
1.1. Doenças cardiovasculares e aterotrombose.....	13
1.2. Antiagregantes plaquetários e a terapia com o ácido acetilsalicílico (AAS).....	16
1.3. Óxido nítrico (NO).....	17
1.4. Hibridização molecular e planejamento estrutural.....	19
2. Objetivos.....	21
2.1. Objetivo geral.....	21
2.2. Objetivos específicos.....	21
3. Metodologia.....	21
3.1. Materiais (Reagentes e Solventes).....	21
3.2. Metodologia Sintética.....	22
3.2.1-Síntese dos derivados furoxânicos.....	22
A. Síntese do 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído....	22
B. Síntese do 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído....	23
C. Síntese do 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol.....	25
3.2.2-Síntese dos derivados antiinflamatórios funcionalizados.....	26
Procedimento 1-Obtenção da hidrazida 1 do AAS.....	26
Procedimento 2- Formação de hidrazida 2 do AAS.....	27
Procedimento 3-Formação da hidrazida 3 do AAS.....	28
3.2.3-Síntese dos compostos híbridos (produtos finais).....	30
3.3-Metodologia Analítica.....	32
3.3.1. Cromatografia em Camada Delgada (C.C.D.).....	32
3.3.2. Determinação da Faixa de Fusão.....	32
3.3.3. Espectroscopia no Infravermelho (I.V.).....	33
3.3.4. Espectrometria de RMN ¹ H e RMN ¹³ C.....	33
3.4-Ensaio “in vitro”.....	33
3.4.1. Detecção quantitativa de nitrito.....	33
4. Resultados e Discussão.....	34
4.1. Rendimentos e pontos de fusão dos compostos.....	34
4.1.1. Derivados furoxânicos funcionalizados.....	34
4.1.1.1- <u>Composto 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído</u>	34
4.1.1.2- <u>Composto 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído</u>	34
4.1.1.3- <u>Composto 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol</u>	34
4.1.2. Derivados antiinflamatórios funcionalizados.....	34

4.1.2.1-Hidrazida 1 do AAS.....	34
4.1.3- Hidrazonas dos derivados furoxânicos metilado, fenilado e benzofuroxano.....	34
4.1.3.1-Hidrazona do furoxano metílico.....	34
4.1.3.2-Hidrazona do benzofuroxano do AAS.....	34
4.2. Identificação por espectrofotometria no infravermelho (I.V.).....	35
4.2.1- Derivados furoxânicos funcionalizados.....	35
4.2.1.1- Composto 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído.....	35
4.2.1.2-Composto 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído.....	36
4.2.1.3-Composto 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol.....	37
4.2.2. Derivados antiinflamatórios funcionalizados.....	38
4.2.2.1- AAS.....	39
4.2.2.2-Éster do AAS.....	40
4.2.2.3-Hidrazida do AAS.....	41
4.2.3. Hidrazonas dos derivados furoxânicos metilado, fenilado e benzofuroxano.....	43
4.2.3.1-Hidrazona do furoxano metílico.....	43
4.2.3.2-Hidrazona do benzofuroxano do AAS.....	44
4.3. Identificação por ressonância magnética nuclear (RMN).....	45
4.3.1. AAS.....	45
4.3.2. Benzofuroxano.....	47
4.4. Teste de doação de NO.....	49
5. Conclusão.....	49
Perspectivas.....	50
6. Referências Bibliográficas.....	50

RESUMO

A aterosclerose é uma doença caracterizada pela perda de elasticidade e espessamento da parede arterial, sendo iniciada pelo acúmulo de lípidos, células inflamatórias e elementos fibrosos na parede das artérias. Esses elementos, ao longo do tempo, dão origem a placas ateroscleróticas ou ateromas que podem por ventura se romper, ocasionando no extravasamento de seu conteúdo lipídico central. Tal situação promoverá a adesão e a agregação plaquetária com conseqüente formação de trombo. As doenças cardiovasculares (DCVs) são a principal causa de morte no mundo, sendo por isso bastante estudadas. Entre os recursos terapêuticos disponíveis se podem citar os antiagregantes plaquetários. A terapia com antiagregantes plaquetários apresenta alguns inconvenientes, que vão desde a ineficácia terapêutica em alguns indivíduos até efeitos adversos deletérios, como hemorragia e transtornos gastrointestinais. É devido a esses fatores, acrescidos à elevada prevalência dessas doenças, que se busca a síntese de novos antiagregantes plaquetários, mais efetivos e menos tóxicos para a prevenção e o tratamento das DCVs, sendo o ácido acetilsalicílico (AAS) um dos fármacos de primeira escolha para tratamento. Nesse projeto, usando a hibridação como estratégia de modificação molecular, planejou-se compostos derivados do AAS espaçados pela subunidade *N*-acilhidrazona contendo ainda uma subunidade doadora de óxido nítrico representado pelos furoxanos e benzofuroxanos. Esses híbridos constituem uma alternativa à “resistência” ao AAS por atuarem em diferentes vias bioquímicas potenciais para inibição da agregação plaquetária.

Lista de Figuras e Esquemas

Figura 1- Eventos iniciais na formação de lesão aterosclerótica (adaptado de GOTTLIEB et al, 2005).....	15
Figura 2- Mecanismo de ação do AAS (adaptado de Hilário et al, 2006).....	17
Figura 3- Mecanismo de vasodilatação mediado pelo NO (adaptado de Cerqueira & Yoshida, 2002).....	18
Figura 4- Representação estrutural do AAS.....	45
Figura 5 - Representação estrutural do benzofuroxano.....	47
Esquema 1- Síntese do 4-metil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído.....	22
Esquema 2- Síntese do 4-fenil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído.....	23
Esquema 3- Reação de ciclocondensação de 4-azido-3-nitrobenzaldeído até formação do 5-formilbenzofuroxano (adaptado de Jorge et al, 2007).....	25
Esquema 4- Síntese da hidrazida 1 do AAS.....	27
Esquema 5- Síntese da hidrazida 2 do AAS.....	28
Esquema 6- Síntese da hidrazida 3 do AAS.....	29
Esquema 7- Síntese dos compostos híbridos.....	30

Lista de Tabelas

Tabela 1 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído (KBr).....	35
Tabela 2 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao 4-fenil - 1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído (KBr).....	36
Tabela 3 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol (KBr).....	37
Tabela 4 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao AAS (KBr).....	39
Tabela 5 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao éster do AAS (KBr).....	40
Tabela 6 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos à hidrazida do AAS (KBr).....	42
Tabela 7 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos à hidrazona do furoxano metílico (KBr).....	43
Tabela 8 -Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos à hidrazona do benzofuroxano do AAS (KBr).....	44
Tabela 9 - Deslocamentos do AAS.....	45
Tabela 10 - Deslocamentos do benzofuroxano.....	47

Lista de Espectros

Espectro1- Infravermelho do intermediário 4-metil-1,2,5-oxidiazol- <i>N</i> -óxido-3-carbaldeído(KBr).....	35
Espectro 2- Infravermelho do intermediário 4-fenil-1,2,5-oxidiazol- <i>N</i> -óxido-3-carbaldeído(KBr).....	36
Espectro 3- Infravermelho do intermediário do 5-formilbenzo- <i>N</i> -óxido-1,2,5-oxadiazol (KBr).....	37
Espectro 4- Infravermelho do AAS (KBr).....	39
Espectro 5- Infravermelho do éster do AAS (KBr).....	40
Espectro 6- Infravermelho da hidrazida do AAS (KBr).....	42
Espectro 7- Infravermelho da hidrazona do furoxano metílico(KBr).....	43
Espectro 8- Infravermelho da hidrazona do benzofuroxano do AAS(KBr).....	44
Espectro 9- Ressonância Magnética Nuclear bidimensional do AAS, utilizando como solvente DMSOd ₆	46
Espectro 10- Espectro do AAS ampliado entre as regiões de δ 8,4 - δ 6,7 ppm.....	46
Espectro 11- Ressonância Magnética Nuclear H ¹ do produto benzofuroxano utilizando como solvente o DMSOd ₆	47
Espectro 12- Ressonância Magnética Nuclear H ¹ ampliada do produto benzofuroxano utilizando como solvente o DMSOd ₆	48

Lista de Abreviaturas e Siglas

5-LO	enzima 5-Lipoxigenase
AAS	ácido acetilsalicílico
ADP	adenosina difosfato
AINE	anti-inflamatório não esteróide
AVC	acidente vascular cerebral
CCD	cromatografia em camada delgada
COX	enzima cicloxigenase
DCC	dicloroexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
DCVs	doenças cardiovasculares
DMAP	dimetiletaminapiridina
DMF	dimetilformamida
GMPc	guanosina monofosfato cíclico
GTP	trifosfato de guanosina
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HDL	lipoproteína de alta densidade
IV	infra vermelho
KBr	brometo de potássio
LDL	lipoproteína de baixa densidade
N ₂ H ₄	hidrato de hidrazina
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico-sintase
PGs	prostaglandinas

Rf	fator de retenção
RMN ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono
sGC	enzima guanilato ciclase solúvel
TEP	tromboembolismo pulmonar
THF	tetrahidrofurano
TVP	trombose venosa profunda
TXA ₂	tromboxano A ₂

1. Introdução

1.1-Doenças Cardiovasculares e Aterotrombose

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2011), as doenças cardiovasculares (DCVs) constituem a principal causa de morte no mundo. Cabe ressaltar que as mortes advindas dessas doenças afetam ambos os sexos de forma semelhante. Estatísticas sugerem que 17,1 milhões de pessoas morreram devido às DCVs em 2004, representando quase 30 % das mortes mundiais daquele ano. Calcula-se que em 2030 esse número será de aproximadamente 23,6 milhões de pessoas. Baseado nesses apontamentos epidemiológicos é indiscutível a importância da descoberta de novos fármacos para o tratamento das DCVs.

Atualmente, as principais classes de medicamentos utilizadas para tratamento de doenças cardiovasculares e aterotrombose são os antihipertensivos, hipolipemiantes e antiagregantes plaquetários. Esta última classe possui importante papel no tratamento das DCVs, já que as plaquetas estão diretamente relacionadas com a inflamação, arterosclerose e a trombose arterial. Assim, os antiagregantes plaquetários são utilizados na prevenção primária e secundária das doenças cardiovasculares (PALOMO *et al*, 2008).

Interações entre plaquetas, leucócitos e células endoteliais caracterizam os processos de inflamação na parede vascular- quando leucócitos são recrutados para o interior da parede vascular- o que culminará no desenvolvimento das lesões ateroscleróticas e aterotrombóticas (SIEGEL *et al.*, 2006).

Na aterogênese, a resposta inflamatória é mediada através de mudanças funcionais em linfócitos T, macrófagos, células endoteliais e células musculares lisas, envolvendo resíduos de LDL-colesterol. Quando as LDL plasmáticas entram

em contato com os radicais livres gerados na camada íntima arterial, essas células sofrem oxidação e induzem à migração de monócitos; estes, por sua vez, fagocitam lipídios e passam a ser denominados células espumosas (GOTTLIEB et al, 2005; JORGE, 2007; FURTADO et al, 2009; SCHATZ, 1991).

A aterosclerose, por sua vez, é caracterizada pela perda de elasticidade e o espessamento da parede arterial devido ao acúmulo de células adiposas por baixo da camada mais interna da artéria, a camada íntima. Esse processo pode afetar vários órgãos vitais, como coração, cérebro, rins, além dos membros inferiores e superiores (MANUAL MERCK, 2009).

A doença é lenta e progressiva, e pode ser causada por diversos fatores, sendo geralmente iniciada com o acúmulo de lipídeos, células inflamatórias e elementos fibrosos na parede das artérias, o que culminará na formação de placas ateroscleróticas ou ateromas (LIBBY P., 2002; GOTTLIEB et al, 2005). Estas placas podem sofrer ruptura, ocasionando extravasamento de seu conteúdo lipídico central e promovendo a adesão plaquetária, ativação da cascata de coagulação e hemostasia primária. Ocorre ainda a liberação de substâncias vasoativas, como os tromboxanos (TXA₂S) e as moléculas de adenosina difosfato (ADP). Por fim, a trombina converte o fibrinogênio em fibrina e assim ocorre a formação do coágulo (MASON et al, 2005; GABRIEL et al, 2007; MCKEE et al, 2002).

Quando esse processo ocorre nas veias do sistema profundo, a trombose é caracterizada como venosa profunda (TVP), podendo originar uma de suas maiores complicações, o tromboembolismo pulmonar (TEP)-quando os coágulos sanguíneos são transportados através da artéria pulmonar até os pulmões. Tal enfermidade envolve os sistemas respiratório e cardiovascular e exibe elevada taxa de mortalidade e morbidade (MARQUES, 1998).

Diversos fatores de risco contribuem para a aterosclerose, podendo ser divididos em três grupos: o dos fatores de risco independentes, o dos fatores predisponentes e o dos fatores de risco condicionais. No primeiro grupo encontram-se as dislipidemias, o LDL-colesterol elevado e HDL-colesterol diminuído, hipertensão arterial sistêmica (HAS), fumo, idade e diabetes mellitus (Figura 1). Cabe ressaltar que a HAS é o mais importante fator de risco para o acidente vascular cerebral (AVC) (GRUNDY et al, 1999; SANTOS, MARTINEZ, 2002). Já do segundo grupo fazem parte história familiar precoce de doença isquêmica do coração, obesidade, sedentarismo, etnia e fatores psicossociais. Quanto ao terceiro grupo, cujo papel na aterogênese é provável, porém ainda não totalmente demonstrado, encontram-se triglicérides, lipoproteína(a), homocisteína, LDL de subclasse pequena e densa, fibrinogênio e fatores inflamatórios (SANTOS, MARTINEZ, 2002).

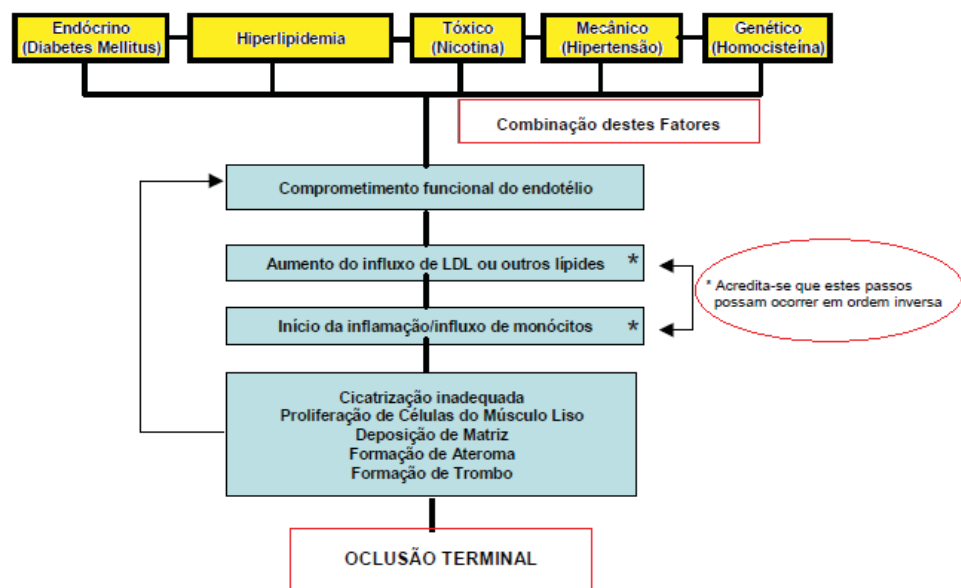


Figura 1: Eventos iniciais na formação de lesão aterosclerótica (adaptado de GOTTLIEB et al, 2005).

1.2 - Antiagregantes plaquetários e a terapia com o ácido acetilsalicílico (AAS)

A terapia antiplaquetária atual tem demonstrado sucesso na prevenção de eventos cardiovasculares primários e secundários, reduzindo a morbidade e a mortalidade de indivíduos detentores de elevados fatores de risco e daqueles que já tenham apresentado um ou mais eventos cardiovasculares trombóticos (MICHELSON, 2010; PALOMO *et al*, 2008). Entretanto, esses fármacos possuem alguns efeitos deletérios, como hemorragia, transtornos gastrointestinais, reações de hipersensibilidade e ineficácia terapêutica (PALOMO *et al*, 2008).

Entre os antiagregantes plaquetários, o AAS permanece como um dos fármacos de primeira escolha como preventivo em eventos tromboembólicos. Devido às suas ações antiinflamatória e antiagregante plaquetária, o AAS é recomendado para a prevenção primária e secundária de cardiopatia isquêmica. Tem uma série de vantagens como preço reduzido e eficácia comprovada na prevenção de doença tromboembólica (FALAVIGNA & WESCHENFELDER, 2001).

Alguns exames são capazes de confirmar a variabilidade das respostas antitrombóticas dos pacientes que fazem tratamento com AAS. São eles: as medidas da agregação plaquetária, ativação plaquetária e do tempo de sangramento (BUCHANA & BRISTER, 1995).

A resistência à aspirina pode ser definida como a falha em produzir uma resposta biológica satisfatória, como inibição plaquetária ou mesmo incapacidade em prevenir eventos aterotrombóticos (MASON, 2005; GABRIEL *et al*, 2007; MCKEE, 2002).

O AAS atua através da inibição irreversível das ciclooxigenases (COX-1 e COX-2), que catalisam a transformação do ácido araquidônico, um lipídio de

membrana, em prostaglandinas (PGs) e tromboxanos (TXA₂s) (Figura 2). A COX-1 é uma enzima constitucional, sendo expressa em muitos tecidos, inclusive nas plaquetas sanguíneas, e está envolvida na homeostase tecidual. Já a COX-2 é uma enzima induzível e a principal responsável pelos eventos inflamatórios (FONSECA et al, 2002).

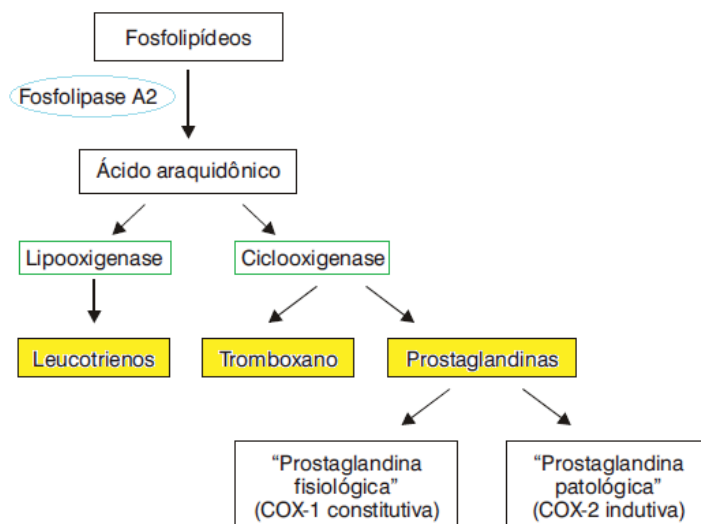


Figura 2: Mecanismo de ação do AAS (adaptado de Hilário et al, 2006)

A inibição de COX-1 nas plaquetas suprime a produção de tromboxano A₂ (TXA₂) (FITZGERALD, 2002; ARAUJO, 2005). Os TXA₂s levam à agregação plaquetária, vasoconstrição e proliferação de músculo liso (FITZGERALD, 2002; ARAUJO, 2005; REZKALLA, 2003; PALOMO et al, 2008; ALDUNATE, 2005).

1.3. Óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) é um potente vasodilatador, sendo de extrema importância no controle cardiovascular. É produzido pelas células endoteliais, apresentando grande importância tanto no controle da resistência periférica vascular como na agregação plaquetária (VANHOUTTE, 2003; ZAGO & ZANESCO, 2006).

Nas doenças cardiovasculares, os níveis de NO geralmente estão diminuídos, o que contribui para os eventos aterotrombóticos. Tendo isso em vista, fica claro que o aumento nos níveis de NO constitui uma alternativa terapêutica interessante a ser pesquisada (ZAFAR *et al.*, 2007).

O NO liberado pelas células endoteliais é responsável pelo relaxamento do músculo liso adjacente, ao atravessar o espaço do endotélio para o músculo liso vascular e estimular diretamente a enzima guanilato ciclase solúvel (sGC).

Além disso, inibe a agregação plaquetária impedindo a formação de trombos, através da ativação da mesma enzima, que catalisa a conversão de trifosfato de guanosina (GTP) em monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), o qual atua ativando diversas proteino-quinasas (Figura 3). Como consequência, o NO previne os processos de trombooses e doenças aterotrombóticas (LYONS, 1995; CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002; CONGER, 1994 VANHOUTTE, 2003; MONCADA, 1991; ZAGO & ZANESCO, 2006; GREENGARD, 1975; BARRETO & CORREIA, 2005).

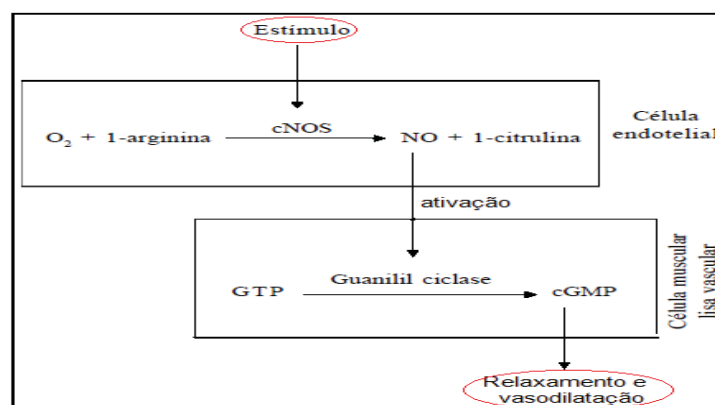


Figura 3: Mecanismo de vasodilatação mediado pelo NO (adaptado de Cerqueira & Yoshida, 2002)

Quando os níveis de cGMP estão elevados, o cálcio intracelular aumenta, relaxando a células. Dessa forma a vasodilatação se desenvolve, mantendo-se enquanto a difusão do NO para a musculatura lisa vascular estiver ocorrendo. Quanto maior o fluxo de NO para a musculatura lisa vascular, maior é o relaxamento celular e conseqüentemente maior será a vasodilatação (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002).

A biossíntese do NO ocorre nas células do endotélio vascular, tendo como catalisadora a enzima óxido nítrico-sintase (NOS) e o oxigênio molecular como cofator. Nesse processo, o terminal guanidino nitrogenado da L-arginina produz o NO e L-citrulina (KUO, 1995; CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002; MONCADA, 1991).

O furoxano e seus derivados (*N*-óxido-1,2,5-oxadiazol) são uma importante classe de compostos que possui a capacidade de doação de NO pela subunidade furoxânica, tendo diferentes propriedades químicas e atividades farmacológicas, apresentando-se como antiagregantes plaquetários, vasodilatadores entre outros (CERECETTO & PORCAL, 2005).

Na literatura são descritos compostos derivados de AAS com propriedades doadoras de NO que apresentam atividade antiinflamatória e antiagregante plaquetária sem os efeitos adversos gastroulcerantes do AAS (ZAFAR *et al.*, 2007; CENA *et al.*, 2003).

1.4. Hibridização molecular e planejamento estrutural

O planejamento de novos fármacos através de técnicas de modificação molecular é uma estratégia promissora, principalmente para aquelas doenças que possuem um mecanismo de ação mais complexo, como é o caso da aterotrombose.

Entre os processos de modificação molecular destacam-se: hibridação, latenciação, bioisosterismo entre outros (SANTOS, 2009).

Na hibridação molecular são asseguradas, à estrutura, propriedades farmacodinâmicas no mínimo duplas, de forma a obter melhor eficácia terapêutica ao evitar a administração de mais de um fármaco simultaneamente. Nesse contexto, para alcançar a resposta terapêutica desejada, deve-se eleger os alvos farmacológicos para a nova entidade química, de forma a assegurar o reconhecimento da mesma por mais de um receptor. Assim, é de grande importância que se tenha conhecimento estrutural disponível sobre os receptores aos quais o composto-protótipo irá ligar-se, com o intuito de se construir a arquitetura molecular do novo ligante desejado (BARREIRO et al, 2002).

O planejamento estrutural visou a usar como protótipo o AAS devido às suas conhecidas atividades de inibição da formação de tromboxano nas plaquetas. A doação de NO pelos derivados furoxânicos também constitui uma abordagem interessante por permitir, por sinergismo de ação, aumento na potência antiagregante plaquetária dos compostos, e por isso foi selecionada neste trabalho.

Tem sido relatado que derivados hidrazônicos demonstram propriedades analgésicas, antiinflamatórias e anti-agregante plaquetária (BARREIRO et al, 2002). Nesse sentido, este trabalho visou, através da estratégia de hibridação molecular, a usar essa subunidade como agente espaçador, a fim de melhorar o perfil antiagregante previamente identificado no AAS (WEBER *et al* 2004; MORPHY & RANKOVIC, 2005).

A combinação dessas três características permite obter um composto com perfil diferenciado para a prevenção e o tratamento de eventos aterotrombóticos atuando por mecanismo de ação múltiplo. Essa abordagem pode ser útil em

situações que são definidas clinicamente como “resistência ao AAS”, já que moléculas como a planejada poderiam também atuar por outras vias na inibição da agregação das plaquetas.

2. Objetivos

2.1- Objetivo geral

Este trabalho visa o planejamento e a síntese de novos derivados do AAS planejado como anti-agregante plaquetário e potencialmente útil para a prevenção e o tratamento de aterotrombose.

2.2- Objetivos específicos

- Síntese dos derivados furoxânicos;
- Síntese de hidrazida do AAS;
- Síntese dos derivados *N*-acil hidrazônicos;

3. Metodologia

3.1-Materiais (Reagentes e Solventes)

4-dimetiletaminapirina (DMAP), acetato de etila, ácido acético glacial, ácido acetilsalicílico, álcool cinâmico, cloreto de oxalila, crotonaldeído, dicloroexilcarbodiimida (DCC), diclorometano, dimetilformamida (DMF), dinitrato de isossorbida, dióxido de manganês, éter etílico, hidrato de hidrazina 64%, metanol, nitrito de sódio, permanganato de potássio, tetrahidrofurano (THF).

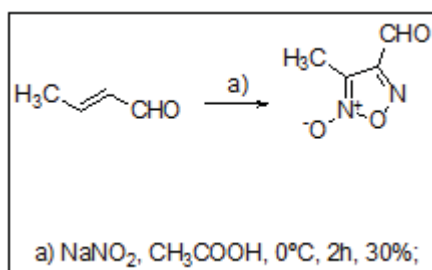
3.2-Metodologia Sintética

3.2.1-Síntese dos derivados furoxânicos

Foram obtidos 3 derivados furoxânicos: *4-metil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído*, *4-fenil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído*, e *5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol*.

A. Síntese do 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído (SANTOS, 2009)

O derivado 4-metil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído (Esquema 1) foi obtido através da reação do crotonaldeído com nitrito de sódio em meio com ácido acético, conforme procedimento previamente descrito na literatura, com rendimento de 30% (Esquema 1) (SANTOS, 2009; MONGE et al 1998).



Esquema 1: Síntese do 4-metil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído.

Sua obtenção foi feita através da reação entre 10g de crotonaldeído (0,142 mol) e 20mL de ácido acético glacial, em balão de fundo redondo com capacidade para 125 ml.

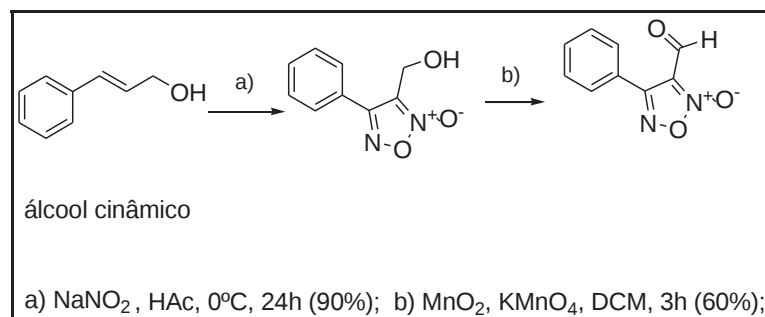
A esta solução de crotonaldeído foi adicionada, posteriormente, em banho de gelo, uma solução saturada de nitrito de sódio (0,497 mol), o que foi feito vagarosamente, gota a gota. Tal reação foi mantida sob agitação magnética constante e a uma temperatura abaixo de 14°C , até a completa adição da solução de nitrito e, após isso, à temperatura ambiente durante 3 horas, aproximadamente.

O isolamento foi feito a partir da diluição do conteúdo reacional em 200 mL de água com posterior extração em porções de diclorometano em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl para dificultar a formação de emulsões e o agente secante sulfato de sódio anidro foi utilizado para remoção da água residual.

Após a evaporação do diclorometano, foi feita a separação do produto desejado em coluna cromatográfica, tendo como fase estacionária a sílica gel e a mistura 50% Acetato de Etila e 50% Hexano como fase móvel.

B. Síntese do 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído (SANTOS, 2009)

O segundo derivado furoxânico (4-fenil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído) foi obtido através da reação do álcool trans-cinâmico com nitrito de sódio em meio com ácido acético. Dados da literatura descrevem o rendimento como sendo de 90% (MONGE et al 1998). Posteriormente, a função álcool foi oxidada a aldeído usando como agente oxidante a mistura dióxido de manganês/permanganato de potássio em meio de clorofórmio com rendimento descrito como sendo de 60% (Esquema 2) (MONGE et al 1998; ADAMS & LUZZIO, 1989).



Esquema 2: Síntese do 4-fenil-1,2,5-oxadiazol-N-óxido-3-carbaldeído.

Sua obtenção foi feita através da reação entre 10,8g do álcool trans-cinâmico e 16mL de ácido acético glacial, em balão de fundo redondo com capacidade para 125 ml e sob agitação magnética constante.

A esta solução foi adicionada, posteriormente, em banho de gelo, uma solução saturada de nitrito de sódio (0,497 mol), o que foi feito vagarosamente, gota a gota. Tal reação foi mantida sob agitação magnética constante e a uma temperatura abaixo de 14 °C, até a completa adição da solução de nitrito e, após isso, à temperatura ambiente durante 24 horas.

A extração foi feita em porções de 20 a 25 ml de éter etílico, até que as frações de éter comesçassem a sair transparentes (as primeiras frações apresentam uma coloração amarelo intensa). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl para dificultar a formação de emulsões e o agente secante sulfato de sódio anidro foi adicionado para a remoção da água residual.

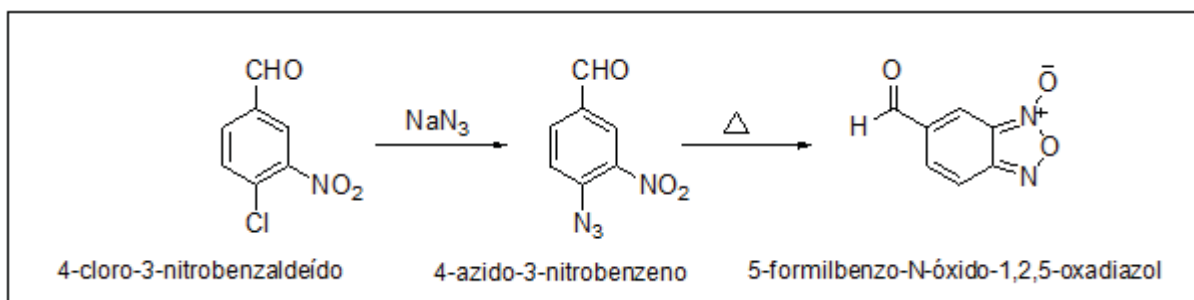
O volume do conteúdo foi reduzido sob pressão reduzida e a purificação do produto desejado foi feita em coluna de cromatografia cromatográfica, tendo como fase estacionária a sílica gel e a mistura 50% Acetato de Etila e 50% Hexano como fase móvel. O rendimento da reação foi de 90% e o fator de Retenção 0,71 (Rf).

Após a purificação, a função álcool do composto obtido foi oxidado a aldeído para a obtenção do 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído. Para isso, diluiu-se 900mg do derivado furoxanico em 30 mL de diclorometano anidro em balão de fundo redondo de 125 mL. Posteriormente, adicionou-se cuidadosamente à mistura reacional e durante uns 15 minutos, 1,45g de $\text{KMnO}_4/\text{MnO}_2$ (13,44 mmol). Este meio reacional foi mantido sob vigorosa agitação sob temperatura ambiente durante um período de 24 horas.

Uma vez completada a reação, o conteúdo do meio reacional foi filtrado em coluna com terra diatomácea (celite), sob pressão reduzida, para remoção da mistura do óxido.

C. Síntese do 5-formilbenzo-*N*-óxido-1,2,5-oxadiazol

Já o terceiro e último derivado desta série (o derivado benzofuroxânico 5-formilbenzo-*N*-óxido-1,2,5-oxadiazol ou 5-formilbenzofuroxano) foi obtido através do composto 4-cloro-3-nitrobenzaldeído, que foi colocado sob refluxo em tolueno por 45 minutos (CERECETTO & PORCAL, 2005; JORGE et al., 2007) (Esquema 3). O tolueno foi evaporado e o óleo obtido redissolvido em acetato de etila. Posteriormente adicionou-se éter de petróleo e a solução foi resfriada. A cristalização foi feita de etanol/água. O aldeído obtido foi filtrado, lavado com água destilada e seco em presença de pentóxido de fósforo.



Esquema 3: Reação de ciclocondensação de 4-azido-3-nitrobenzaldeído até formação do 5-formilbenzofuroxano (adaptado de JORGE et al., 2007).

A um balão de 125 mL, foi obtida uma solução adicionado-se 10 g (0,0054mol) de 4-cloro-3-nitrobenzaldeído e 30 mL de dimetilsulfóxido, que foi submetida a um aquecimento de 75° C em banho de óleo. Depois disso, a solução foi retirada do banho e então foram adicionados 3,53 g (0,054 mol) de azida de sódio, em pequenas porções, para que a temperatura não ultrapassasse os 80° C. A

síntese do anel benzofuroxano iniciou-se na primeira etapa com uma reação de substituição nucleofílica aromática entre os reagentes 4-cloro-3-nitrobenzaldeído e o sal azida de sódio.

Após completa adição de azida de sódio, a mistura foi aquecida a 75° C por 15 minutos. Posteriormente, adicionou-se gelo à mistura reacional e a fase aquosa foi extraída com porções de éter. À fase orgânica foi adicionado sulfato de sódio anidro para a remoção da água residual. Então essa foi filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O produto 4-azido-3-nitrobenzeno foi obtido e apresentou-se como um sólido amarelo acastanhado. A segunda etapa da síntese do anel benzofuroxano envolveu o mecanismo de reação de eliminação com a saída do grupo abandonador para a obtenção do aldeído 4-azida-3-nitrobenzaldeído.

Posteriormente o produto foi dissolvido em 50 mL de tolueno e permaneceu em refluxo por 45 minutos. Essa etapa de aquecimento promoveu um rearranjo molecular (ciclocondensação) com liberação de nitrogênio gasoso, obtendo-se assim o aldeído desejado.

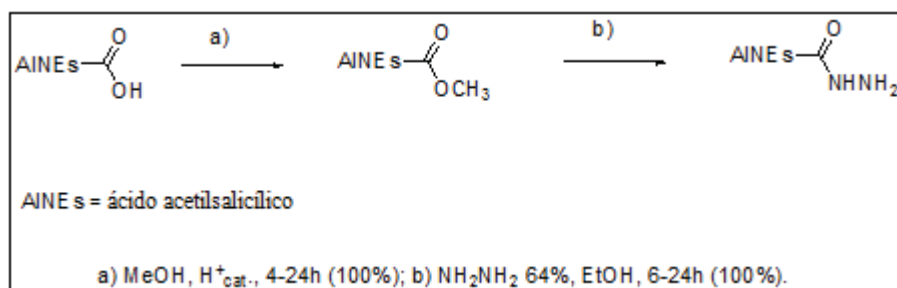
O solvente foi evaporado e adicionou-se 20 mL de acetato de etila e carvão ativado. Essa mistura foi filtrada e 20 mL de éter de petróleo foram acrescentados para que houvesse a formação de precipitado. Houve precipitação e o produto obtido foi filtrado, apresentando-se como um sólido amarelo acastanhado. Este foi identificado por CCD (cromatografia em camada delgada).

3.2.2-Síntese dos derivados anti-inflamatórios funcionalizados

Para obtenção da hidrazida do AAS foram tentados 3 procedimentos diferentes.

Procedimento 1-Obtenção da hidrazida 1 do AAS

Este procedimento foi descrito previamente por VIZIOLI et al, 2009 e está representado no esquema abaixo (Esquema 4).



Esquema 4: Síntese da hidrazida 1 do AAS.

Neste primeiro mecanismo, catalisado por ácido, o AAS reagiu com o metanol para a obtenção do éster metílico. Posteriormente, este foi reagido com hidrato de hidrazina (N_2H_4) 64%, através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular, para obtenção da primeira hidrazida do AAS.

Neste procedimento, o produto final foi sintetizado por duas partes, sendo a primeira delas a formação do éster do AAS e a segunda delas, a obtenção da hidrazida do AAS.

Para a formação do éster, adicionou-se 500mg de AAS a um balão de 125 ml, 40 ml de metanol e 2 gotas de ácido acético, mantidos sob agitação e à temperatura ambiente, por 24 horas. O volume do conteúdo foi reduzido sob pressão reduzida e, após isso, adicionou-se gelo à solução, para que houvesse a formação de precipitado, que foi filtrado para a obtenção do éster.

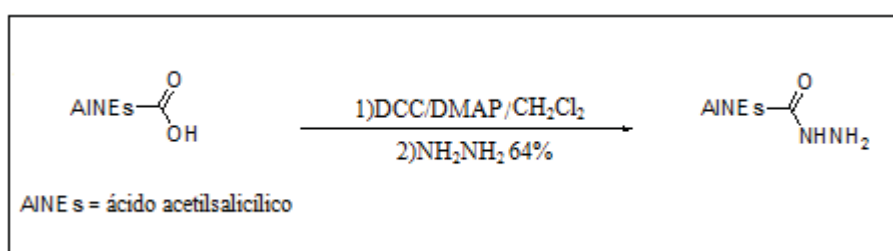
Já na segunda etapa, foram adicionados, sob banho de gelo, 6 ml de hidrato de hidrazina 64% ao éster previamente obtido. Após isso, retirou-se o banho de gelo e deixou-se reagir por 24 horas.

O volume do conteúdo foi reduzido sob pressão reduzida e ao mesmo foi adicionado gelo, para que houvesse a precipitação do produto desejado. Caso isso

não ocorresse, o isolamento era feito com porções de 20 a 25 ml de éter etílico e posteriormente com porções de acetato de etila.

Procedimento 2- Formação de hidrazida 2 do AAS

Já no segundo procedimento, o AAS foi convertido em hidrazida por meio de duas etapas sintéticas e de acordo com o esquema 5. Neste procedimento, o AAS foi convertido em hidrazida por meio de duas etapas sintéticas.



Esquema 5: Síntese da hidrazida 2 do AAS.

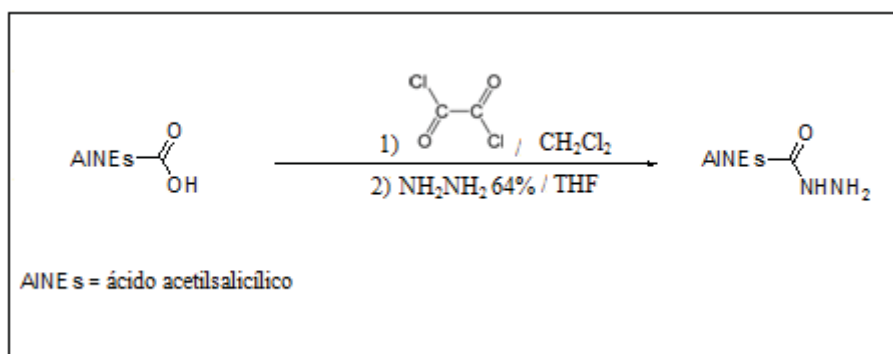
Na primeira, o AAS, o agente acoplante dicloroexilcarbodiimida (DCC) e o catalisador dimetiletaminapiridina (DMAP) foram adicionados em meio de diclorometano (DCM). Para isso, foram adicionados a um balão de 125 ml sob agitação e banho de gelo 144mg (10^{-4} mol) de AAS, 164,8mg (10^{-4} mol) de DCC, 9,76mg (10^{-5} mol) de DMAP e 20 ml de DCM. É importante ressaltar que a temperatura foi mantida entre 0 e 3 °C.

Após 30 minutos, N_2H_4 64%, foi adicionada à reação para obtenção da hidrazida do AAS. Dessa forma, após 30 minutos, ainda sob banho de gelo, 0,4 ml de N_2H_4 64% foi adicionado à reação, juntamente com o agente secante sulfato de sódio, para obtenção da segunda hidrazida do AAS. O gelo foi trocado constantemente até o final da reação, que foi de 3 a 4 horas, após a adição de todos os componentes.

Depois de completada a reação, a mistura reacional foi filtrada a vácuo, reduzida a um pequeno volume e extraída com porções de diclorometano e posteriormente acetato de etila.

Procedimento 3-Formação da hidrazida 3 do AAS

Por fim, o terceiro procedimento consiste na reação do AAS com cloreto de oxalila em meio de DCM destilado a 55°C na presença de dimetilformamida (DMF) como catalisador. Após a formação do cloreto de acila (6 horas) adicionou-se N_2H_4 e tetrahidrofurano (THF), mantendo a reação durante 1 hora a 0°C. O esquema abaixo (Esquema 6) representa esse procedimento.



Esquema 6: Síntese da hidrazida 3 do AAS.

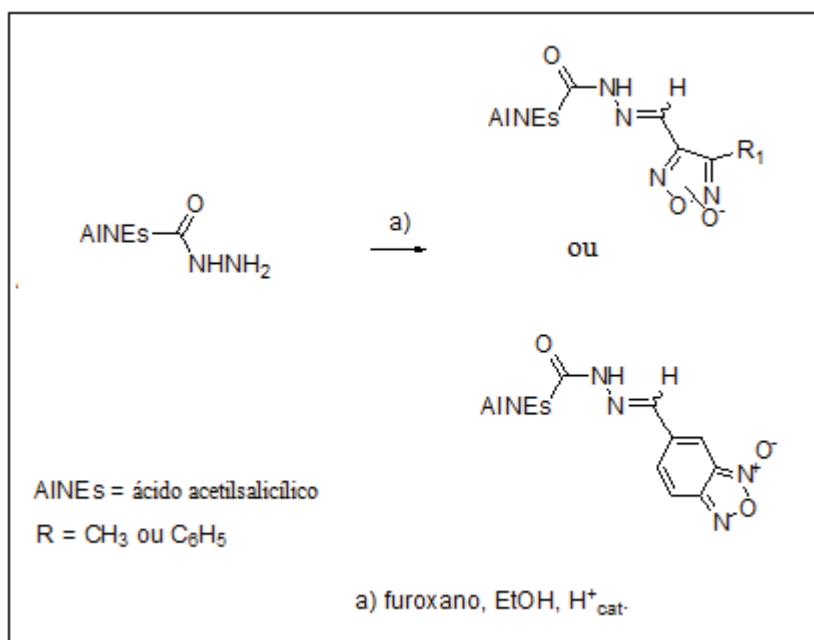
Para isso, em um balão de 125 ml, sob refluxo, com agitação e em banho de óleo foram reagidos 200mg ($1,11 \times 10^{-3}$ mol) de AAS, 0,18 ml de cloreto de oxalila ($2,22 \times 10^{-3}$ mol), 10 ml de DCM e 4 gotas de DMF. A temperatura foi controlada até que estivesse entre 50 e 60 °C e mantida por 6 horas subseqüentes. Após esse período, o sistema foi colocado em banho de gelo até 30°C e o volume obtido foi reduzido sob pressão reduzida. Em seguida, colocou-se o balão novamente em banho de gelo para que resfriasse.

A parte, foi preparada uma solução contendo 5 ml de THF e 0,1ml de hidrato de hidrazina 64%. Esta solução foi adicionada ao balão previamente resfriado, sob agitação, a temperatura constante, vagarosamente, gota a gota, durante 1 hora.

Por fim, o volume foi reduzido a pressão reduzida e foram adicionados os solventes éter, acetato de etila e metanol, nessa ordem, para que houvesse precipitação do produto desejado, que foi filtrado em seguida.

3.2.3-Síntese dos compostos híbridos (produtos finais)

A ultima etapa reacional envolve o acoplamento da hidrazida do AAS com a função aldeído dos derivados furoxânicos e benzofuroxano, em meio etanólico catalisado por ácido, com o intuito de se formar a subunidade espaçadora *N*-acil hidrazona presente nos novos derivados do AAS (Esquema 7) (CUNHA et al 2003; BARREIRO et al 2002; LIMA et al 2008).



Esquema 7: Síntese dos compostos híbridos

Para a obtenção das hidrazonas dos furoxanos metilados, foram dissolvidos 210 mg do 4-metil-1,2,5-oxidiazol-n-óxido-3-carbaldeído em 5 ml de etanol em balão de fundo redondo de 125 ml, com posterior adição de 2-3 gotas de ácido acético glacial. Em seguida foram adicionados 300 mg da hidrazida do AAS. O 4-metil-1,2,5-oxidiazol-n-óxido-3-carbaldeído foi colocado em excesso pois é muito solúvel em etanol, meio em que ocorre a reação. A reação ocorreu sob agitação constante e temperatura ambiente, por um período de 7 horas. O ponto de fusão do composto final foi medido.

Já para a obtenção das hidrazonas dos furoxanos fenilados, foram dissolvidos 205mg do 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-n-óxido-3-carbaldeído em 5 ml de etanol e adicionados em balão de fundo redondo de 125 ml, com posterior adição de 2-3 gotas de ácido acético glacial. Em seguida foram adicionados 215mg da hidrazida do AAS. A reação ocorreu sob agitação constante e temperatura ambiente, por um período de 7 horas.

Para a obtenção das hidrazonas do benzofuroxano foram dissolvidos 211mg de 5-formilbenzo-n-óxido-1,2,5-oxadiazol em 15 ml de etanol, com adição de 2-3 gotas de ácido acético glacial. O sistema foi deixado sob agitação por 5 minutos para que só então fossem adicionados 250 mg da hidrazida do aas. . A reação ocorreu sob agitação constante e temperatura ambiente, por um período de 3 horas. O ponto de fusão do composto final foi medido.

O monitoramento da reação foi realizado por cromatografia em camada delgada (c.c.d), utilizando como fase móvel uma mistura de 70% acetato de etila e 30% hexano. As placas cromatográficas foram reveladas com ninidrina, reagente que cora em rosa os grupos com amina livre. Os resultados mostraram que essa função não estava presente no produto desejado. Decorrido o tempo de reação,

reduziu-se o volume do meio reacional sob pressão reduzida, e adicionou-se gelo para ocorrer precipitação do produto. Este foi separado por filtração e lavado com água fria. Caso não houvesse precipitação do produto eram feitas extrações com porções de diclorometano até que este estivesse transparente. O solvente foi evaporado a sob pressão reduzida.

3.3-Metodologia Analítica

3.3.1. Cromatografia em Camada Delgada (C.C.D.)

Para o acompanhamento das reações, utilizou-se cromatografia em camada delgada. A fase estacionária utilizada nesse caso foi a sílica. Essa técnica é muito importante, pois através dela, é possível estabelecer se dois compostos são idênticos, verificar a pureza de um composto, determinar o número de componentes em uma mistura, determinar o solvente apropriado para separação em uma coluna Cromatográfica, monitorar a separação de uma mistura em uma coluna cromatográfica ou acompanhar o progresso de uma reação. Diferentes fases móveis foram utilizadas nesse trabalho. Nessa técnica, o eluente, por força da capilaridade, percorre a fase fixa em movimento ascendente, carreando consigo os componentes da amostra, sendo que diferentes compostos ascendem a diferentes alturas dependendo de suas estruturas moleculares.

3.3.2. Determinação da Faixa de Fusão

As faixas de fusão dos compostos foram determinadas, sem correção, em aparelho de Ponto de fusão capilar “Electrothermal”.

3.3.3. Espectroscopia no Infravermelho (I.V.)

Os espectros de absorção no IV, na região de 4.000 a 400 cm^{-1} , foram obtidos em pastilhas de KBr no espectrofotômetro Shimadzu, do modelo FTIR-8300.

3.3.4. Espectrometria de RMN ^1H e RMN ^{13}C

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram realizados na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP), utilizando-se espectrômetro, Brüker, modelo Advance DPX300 - 300 MHz.

3.4-Ensaio “*in vitro*”

Foi realizado o ensaio de quantificação de nitrito para avaliar indiretamente a capacidade de doação de NO pelos novos compostos sintetizados.

3.4.1. Detecção quantitativa de nitrito (SORBA et al, 1997)

Tendo em vista que o NO, em solução, rapidamente se oxida a nitritos e nitratos, pode-se medir a capacidade de doação de óxido nítrico dos compostos em análise através da quantificação da concentração de nitrito.

Este ensaio foi realizado na ausência ou presença de cisteína (0,5 mM e 5 mM), utilizando como revelador reagente de Griess, segundo procedimento descrito por SORBA et al 1997. Os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos por mais 3 vezes em dias distintos e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 540 nm. Os resultados foram expressos como porcentagem nitrito (NO^2) mol/mol + erro padrão da média.

4. Resultados e Discussão

4.1-Rendimentos e pontos de fusão dos compostos

4.1.1. Derivados furoxânicos funcionalizados

4.1.1.1- Composto 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído

O rendimento da reação foi de 30% e o fator de Retenção 0,19(Rf).

4.1.1.2-Composto 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído

O fator de Retenção é 0,85 (Rf), e a reação tem rendimento de 60%.

4.1.1.3-Composto 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol

Este foi identificado por CCD (cromatografia em camada delgada), apresentando uma mancha com $R_f = 0,75$, faixa de fusão entre 68 – 74,3° C e rendimento de 75%.

4.1.2. Derivados antiinflamatórios funcionalizados

4.1.2.1-Hidrazida 1 do AAS

O ponto de fusão deste composto, assim como do éster do AAS foi medido, sendo de 133°C -136,7°C para o éster do AAS e de 98,6°C -110°C para a hidrazida 1 do AAS.

4.1.3- Hidrazonas dos derivados furoxânicos metilado, fenilado e benzofuroxano

4.2.3.1-Hidrazona do furoxano metílico

O ponto de fusão do composto final foi medido e o valor obtido foi de 163°C - 173,5°C para a hidrazona metil do AAS

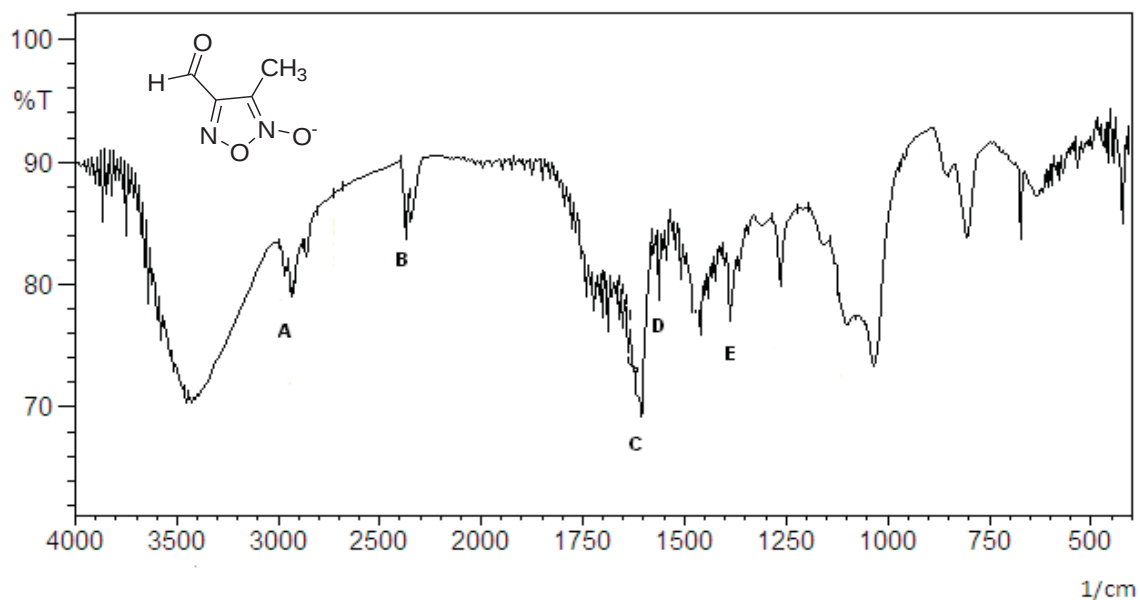
4.2.3.2-Hidrazona do benzofuroxano do AAS

O ponto de fusão do composto final foi medido e o valor obtido foi de 217,5°C - 221°C para a hidrazona benzo do AAS e de 231,2°C - 236,9°C para a hidrazona benzo do AS, valor medido apenas para comparação.

4.2-Identificação por Espectrofotometria no Infravermelho (IV)

4.2.1. Derivados furoxânicos funcionalizados

4.2.1.1- Composto 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído

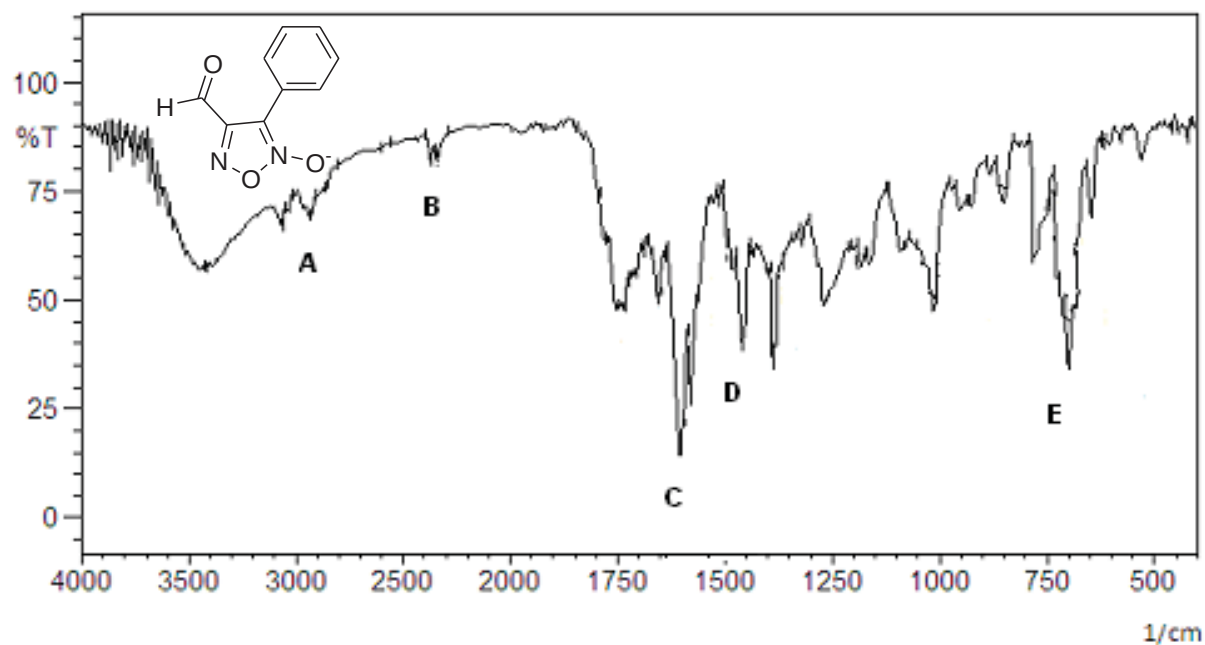


Espectro1: Infravermelho do intermediário 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído(KBr).

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
A	2924,21	C-H (Aromático)	Axial
B	2360,01	CO ₂ aldeído	Axial
C	1609,67	C=O aldeído	Axial
D	1570,71	N-O (N-óxido)	Angular
E	1375,20	CH ₃	Angular Simétrica

Tabela 1 :Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao 4-metil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído (KBr).

4.2.1.2-Composto 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído

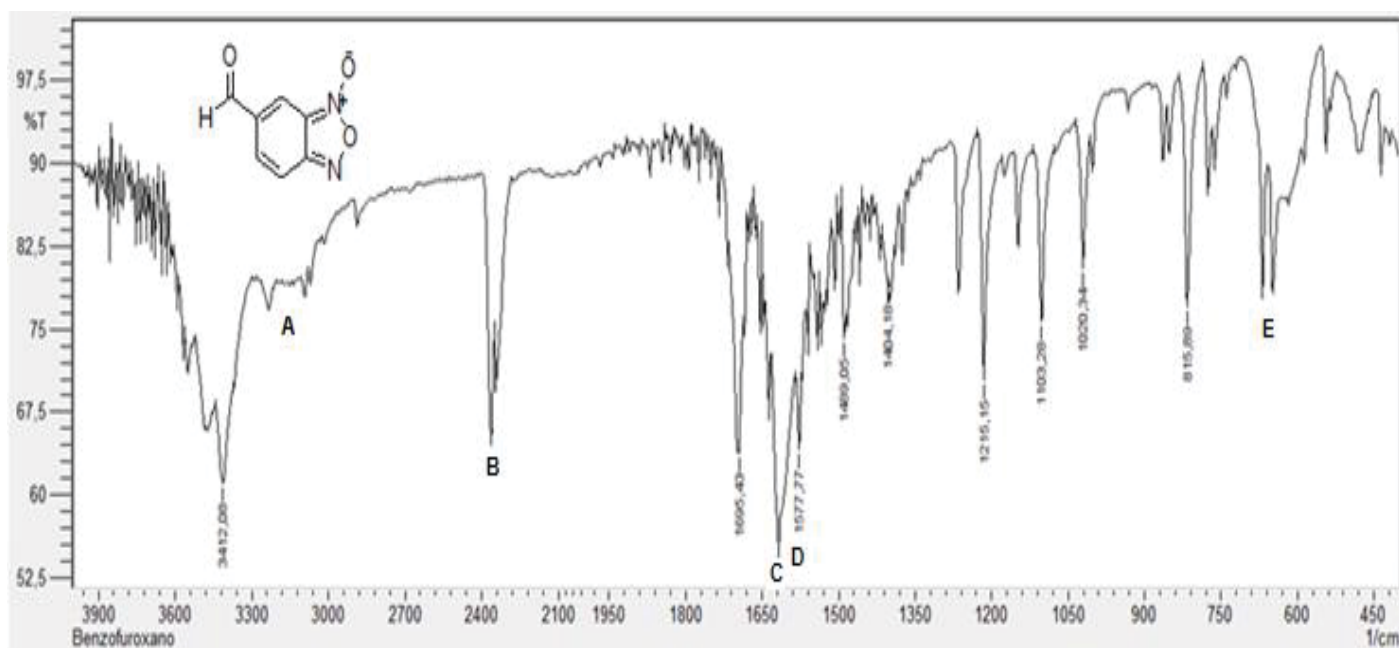


Espectro 2: Infravermelho do intermediário 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído(KBr)

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
A	3061,16-2924,10	C-H aromático	Axial
B	2336,86	CO ₂ aldeído	Axial
C	1600,02	C=C aromático	Axial
D	1577,84	N-O (N-óxido)	Angular
E	697,30	Aromático Monossustituído	Angular

Tabela 2: Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao 4-fenil -1,2,5-oxidiazol-N-óxido-3-carbaldeído (KBr)

4.2.1.3-Composto 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol



Espectro 3: Infravermelho do intermediário do 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol (KBr)

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
A	3061,16-2924,10	C-H aromático	Axial
B	2336,86	CO ₂ aldeído	Axial
C	1600,02	C=C aromático	Axial
D	1577,84	N-O (N-óxido)	Angular
E	697,30	Aromático Monossustituído	Angular

Tabela 3: Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao 5-formilbenzo-N-óxido-1,2,5-oxadiazol (KBr)

Todos os derivados furoxânicos funcionalizados apresentam funções características comuns em seus espectros de absorção no infravermelho, que podem ser observadas nas deformações axiais representantes Na função aldeído e *N*-óxido.

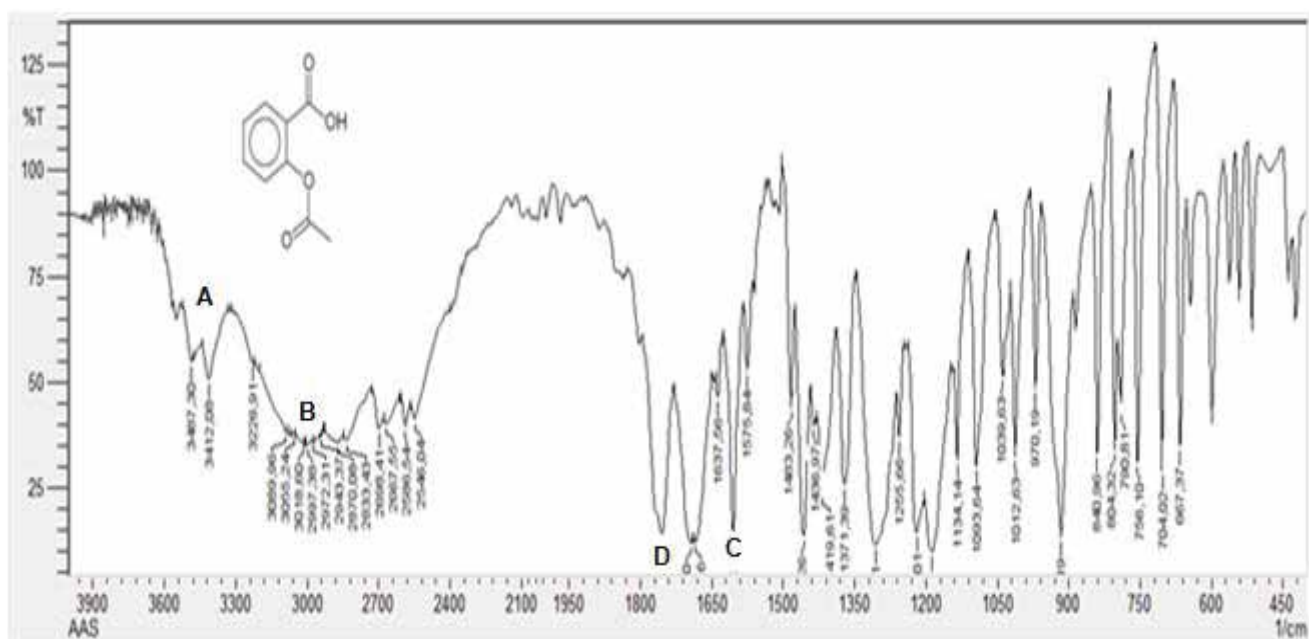
Em 2336 cm^{-1} e 2360 cm^{-1} pode ser visualizada a ligação CO_2 da função aldeído. Já em 1577 cm^{-1} , 1575 cm^{-1} e 1570 cm^{-1} a função N-O (*N*-óxido) é a que pode ser visualizada nos 3 diferentes derivados furoxânicos.

Em 4-metil-1,2,5-oxidiazol-*N*-óxido-3-carbaldeído pode-se observar a deformação provocada pelo estiramento angular simétrico da metila em 1375 cm^{-1} . Já em 4-fenil-1,2,5-oxidiazol-*N*-óxido-3-carbaldeído e em 5-formilbenzo-*N*-óxido-1,2,5-oxadiazol pode-se observar o estiramento da fenila monossustituída em 697,30 cm^{-1} .

4.2.2. Derivados antiinflamatórios funcionalizados

Para fins de caracterização dos derivados do AAS serão apresentados inicialmente os dados relativos à identificação do anti-inflamatório AAS usado como reagente.

4.2.2.1- AAS

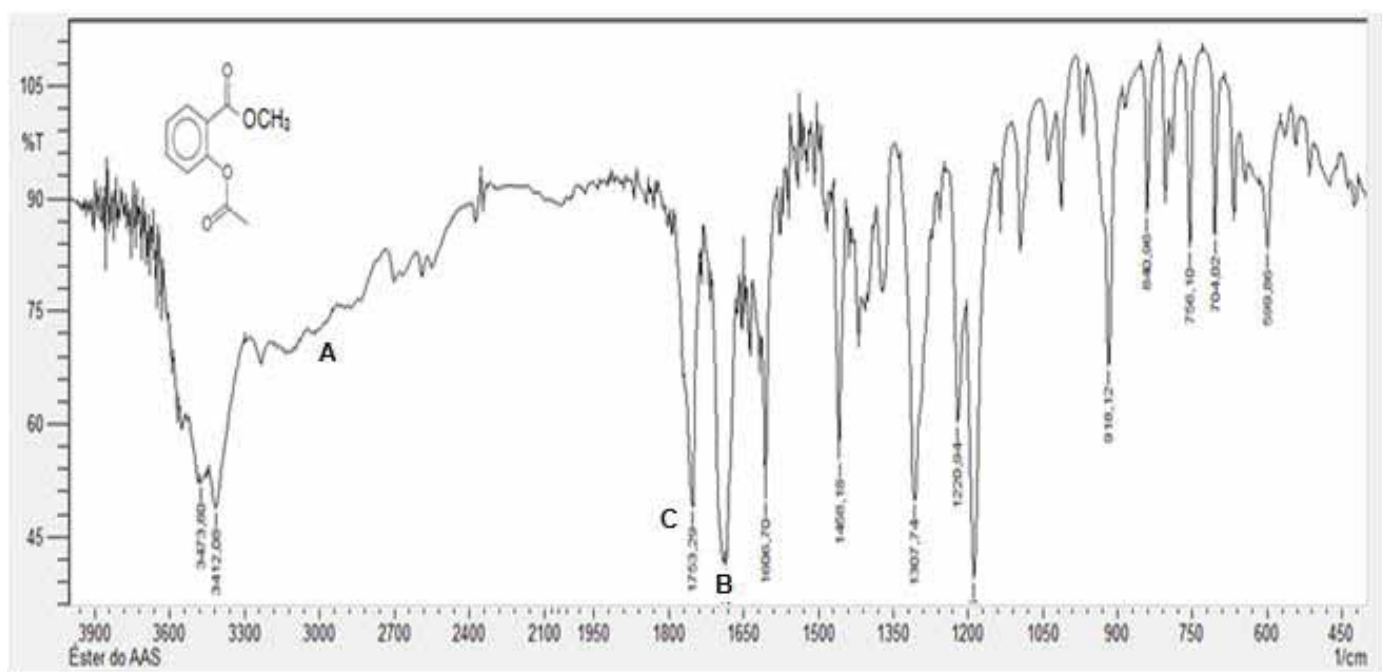


Espectro 4: Infravermelho do AAS (KBr)

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
A	3400	O-H	Axial
B	2970	C-H (aromático)	Axial
C	1600,02	C=O	Axial
D	1752	C=O (éster)	Axial

Tabela 4: Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao AAS (KBr).

4.4.2.2-Éster do AAS



Espectro 5: Infravermelho do éster do AAS(KBr)

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
A	2970	C-H (aromático)	Axial
B	1680	C=O (éster)	Axial
C	1753	C=O (éster)	Axial

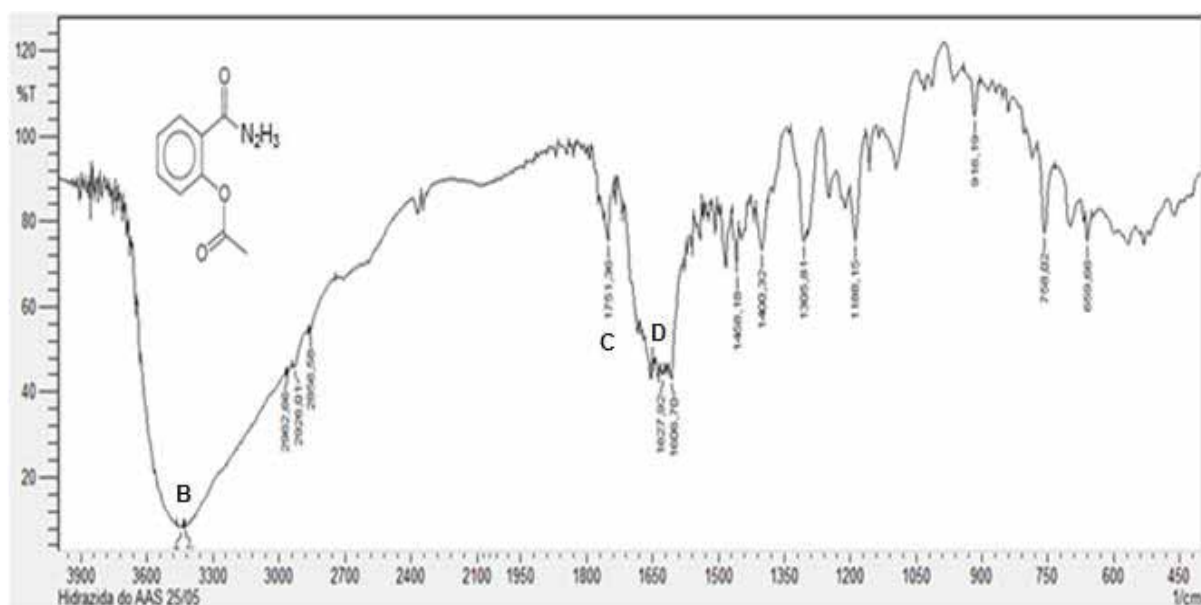
Tabela 5: Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos ao éster do AAS(KBr).

Pelo espectro na região do infravermelho podemos observar os deslocamentos da função éster no novo derivado. O ácido carboxílico conjugado ao sistema aromático que antes era visualizado em 1600 cm^{-1} apresentou deslocamento para 1680 cm^{-1} , mostrando modificação química de uma carbonila de ácido para uma carbonila de éster. Há ainda, o desaparecimento do estiramento axial da ligação O-H.

4.2.2.3-Hidrazida do AAS

Das metodologias sintéticas usadas para obtenção da hidrazida do AAS aquela que levou à obtenção do produto desejado em maior rendimento e menor quantidade de impureza foi aquela na qual foi utilizado agente acoplante (hidrazida 2). A formação de amidas usando agentes acoplantes representa um método de síntese mais brando quando comparado aos outros procedimentos utilizados neste trabalho. O refluxo do AAS com hidrazina parece levar à hidrólise da função éster presente na hidroxila fenólica do AAS. Sendo assim, os outros dois métodos pareceram ser inadequados para obtenção do produto desejado.

Podemos observar pelo espectro de infravermelho do produto obtido pela reação usando agente acoplante que ainda há presença da função éster (hidroxila fenólica) em 1751 cm^{-1} . A carbonila da função hidrazida pode ser visualizada respectivamente em 1627 cm^{-1} . Em 3400 cm^{-1} observamos a presença do estiramento N-H da função hidrazida provavelmente envolvida em uma ligação hidrogênio intramolecular.



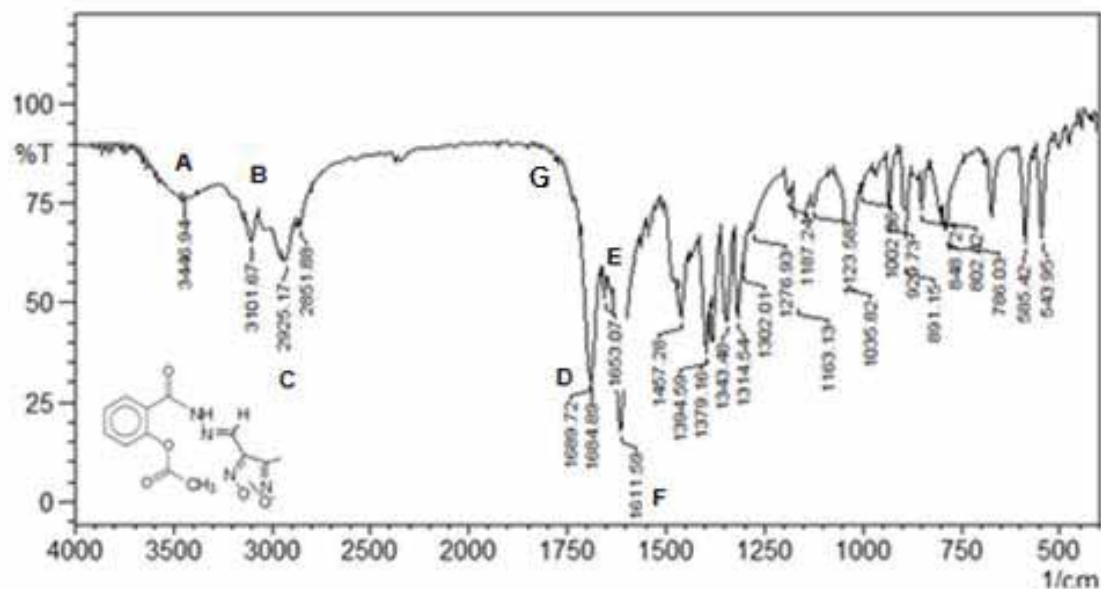
Espectro 6: Infravermelho da hidrazida do AAS (KBr)

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
B	3400	N-H	Axial
C	1751	C=O Ester	Axial
D	1627	C=O hidrazida	Axial

Tabela 6: Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos à hidrazida do AAS (KBr).

4.2.3- Hidrazonas dos derivados furoxânicos metilado, fenilado e benzofuroxano

4.2.3.1-Hidrazona do furoxano metílico



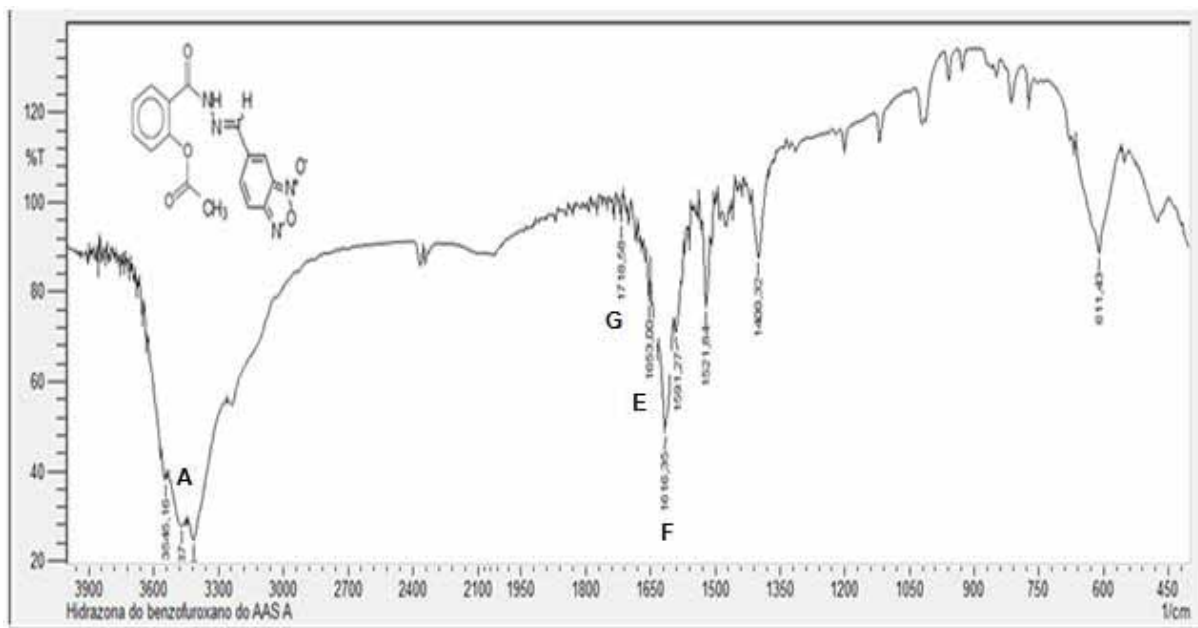
Espectro 7: Infravermelho da hidrazona do furoxano metílico (KBr).

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
A	3446	N-H	Axial
B	3101	C-H aromático	axial
C	2925	C-H _{CH3a}	axial
D	1689	C-O _{éster}	axial
E	1653	C-O _{hidrazida}	axial
F	1611	C=N ligação imina	axial
G	1751	C=O ester	axial

Tabela 7: Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos à hidrazona do furoxano metílico(KBr).

Podemos observar pelo Espectro 7 a presença da carbonila de imina em 1611 cm⁻¹ decorrente da formação da ligação N-acil hidrazona.

4.2.3.2-Hidrazona do benzofuroxano do AAS



Espectro 8: Infravermelho da hidrazona do benzofuroxano do AAS(KBr)

Podemos observar pelo Espectro 8 a presença da carbonila de imina em 1616 cm-1 decorrente da formação da ligação *N*-acil hidrazona.

Marcador	V (cm/1)	Grupo característico	Tipo de deformação
A	3446	N-H	axial
E	1653	C-O _{hidrazida}	axial
F	1616	C=N ligação imina	axial
G	1758	C=O ester	axial

Tabela 8: Bandas de absorção do espectro no infravermelho relativos à hidrazona do benzofuroxano do AAS (KBr).

4.3-Identificação por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

4.3.1- AAS

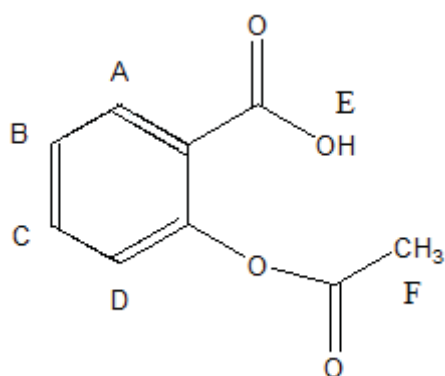
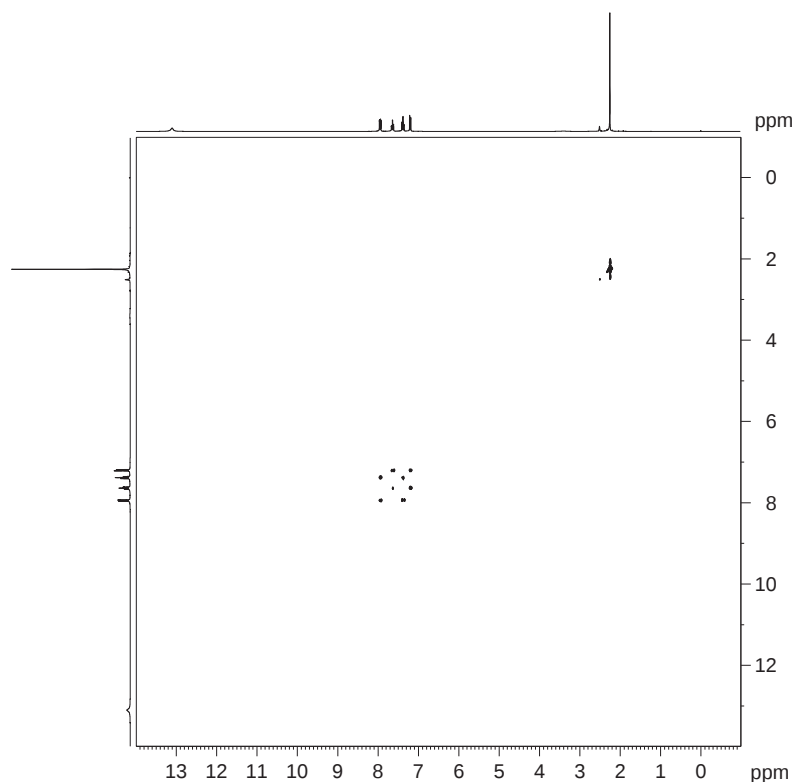


Figura 4 - Representação estrutural do AAS.

RMN H^1	δ (ppm)
H_A	8,0
H_B	7,4
H_C	7,6
H_D	7,2
OH_E	13,0
H_F	2,3

Tabela 9- Deslocamentos do AAS

Jean AAS T=300K DPX300 13/05/2011 (54753)



```
Current Data Parameters
NAME      54753_Jean_2
EXPNO     3
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20110513
Time      13.11
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm Multinucl
PULPROG   cosygpgqf
TD         4096
SOLVENT   DMSO
NS         8
DS         8
SWH        4496.403 Hz
FIDRES     1.097755 Hz
AQ         0.4555252 sec
RG         256
DW         111.200 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
d0         0.00000300 sec
d1         1.48689198 sec
d13        0.00000400 sec
d16        0.00020000 sec
IN0        0.00022240 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P0         10.20 usec
P1         10.20 usec
PL1        0.00 dB
SF01       300.1319508 MHz

===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1     SINE.100
GPNAM2     SINE.100
GPZ1       10.00 %
GPZ2       10.00 %
P16        1000.00 usec

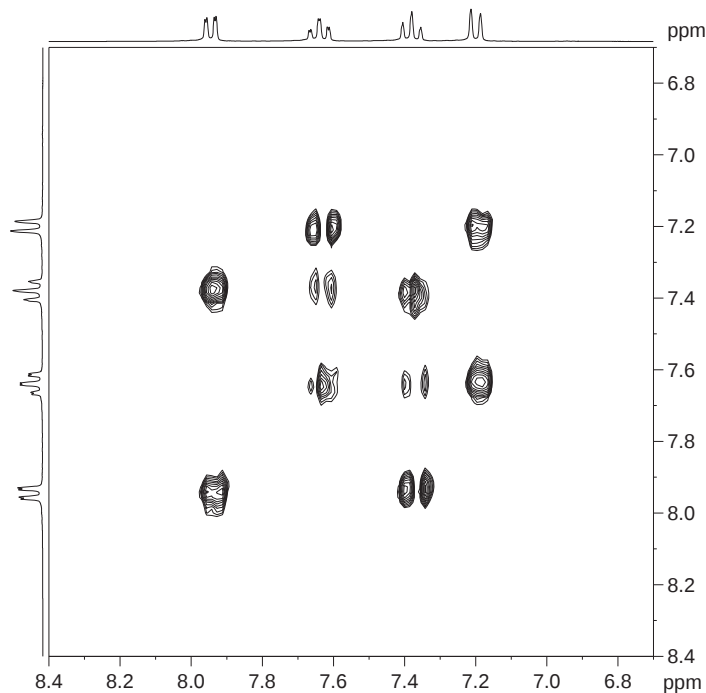
F1 - Acquisition parameters
ND0         1
TD          256
SF01        300.132 MHz
FIDRES      17.564074 Hz
SW          14.981 ppm
FnMODE      QF

F2 - Processing parameters
SI          1024
SF          300.1300000 MHz
WDW         SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
PC          1.00

F1 - Processing parameters
SI          1024
MC2         QF
SF          300.1300000 MHz
WDW         SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
```

Espectro 9: Ressonância Magnética Nuclear bidimensional do AAS, utilizando como solvente DMSO_{d6}

Jean AAS T=300K DPX300 13/05/2011 (54753)



```
Current Data Parameters
NAME      54753_Jean_2
EXPNO     3
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20110513
Time      13.11
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm Multinucl
PULPROG   cosygpgqf
TD         4096
SOLVENT   DMSO
NS         8
DS         8
SWH        4496.403 Hz
FIDRES     1.097755 Hz
AQ         0.4555252 sec
RG         256
DW         111.200 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
d0         0.00000300 sec
d1         1.48689198 sec
d13        0.00000400 sec
d16        0.00020000 sec
IN0        0.00022240 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P0         10.20 usec
P1         10.20 usec
PL1        0.00 dB
SF01       300.1319508 MHz

===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1     SINE.100
GPNAM2     SINE.100
GPZ1       10.00 %
GPZ2       10.00 %
P16        1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
ND0         1
TD          256
SF01        300.132 MHz
FIDRES      17.564074 Hz
SW          14.981 ppm
FnMODE      QF

F2 - Processing parameters
SI          1024
SF          300.1300000 MHz
WDW         SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
PC          1.00

F1 - Processing parameters
SI          1024
MC2         QF
SF          300.1300000 MHz
WDW         SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
```

Espectro 10: Espectro do AAS ampliado entre as regiões de δ 8,4 - δ 6,7 ppm.

O solvente dimetilsulfóxido deuterado (DMSOd₆) foi utilizado para obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN H¹).

4.3.2- Benzofuroxano

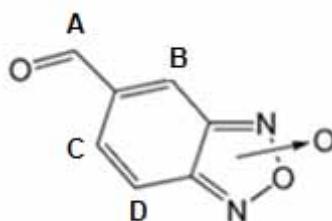
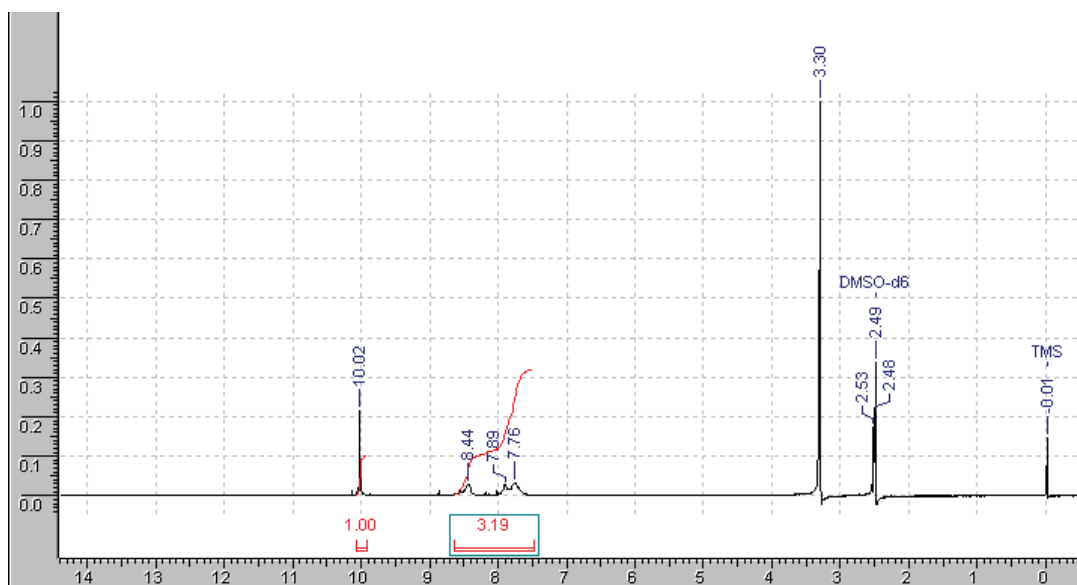


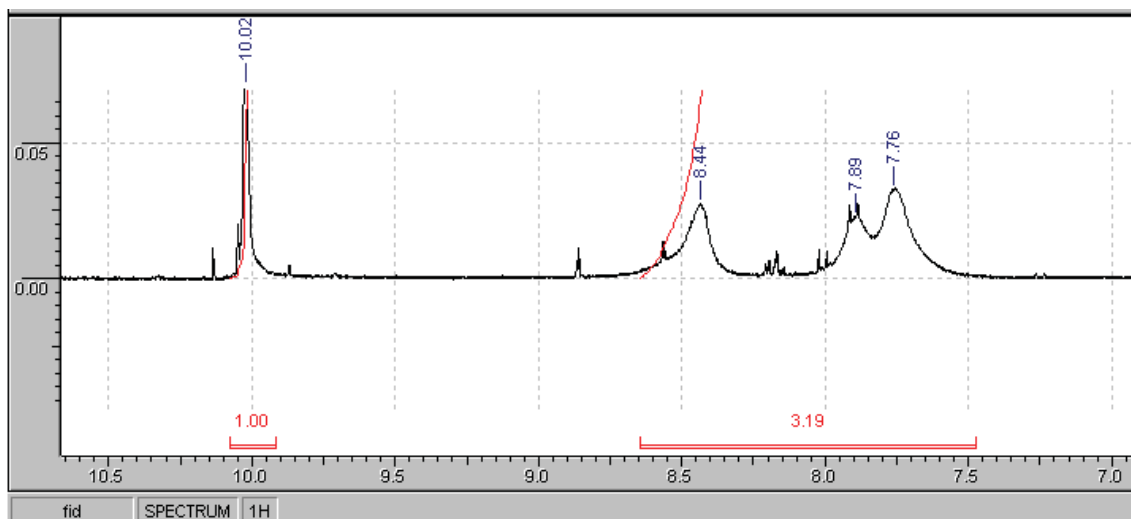
Figura 5 - Representação estrutural do benzofuroxano.

RMN H ¹	δ (ppm)
H _A	10,02
H _B	8,44
H _C	7,19
H _D	7,76

Tabela 10- Deslocamentos do benzofuroxano



Espectro 11: Ressonância Magnética Nuclear H¹ do produto benzofuroxano utilizando como solvente o DMSOd₆.



Espectro 12: Ressonância Magnética Nuclear H^1 ampliada do produto benzofuroxano utilizando como solvente o $DMSO-d_6$.

O solvente dimetilsulfóxido deuterado ($DMSO-d_6$) foi utilizado para obtenção dos espectros de Ressonância magnética Nuclear ($RMN\ H^1$). O espectro de hidrogênio do benzofuroxano não apresenta os sinais bem definidos no RMN, isso é uma característica comum dos benzofuroxanos devido à possibilidade de tautomeria. Os outros furoxanos foram previamente caracterizados por Santos (2009) e por isso seus espectros não são apresentados neste trabalho.

Os espectros de RMN das hidrazonas (produtos finais) estão sob análise e não haviam sido recebidos até o término da apresentação deste trabalho escrito.

4.4 - Teste de Doação de NO

Para a hidrazona do AAS contendo o furoxano metílico, a quantidade de nitrito gerada estava compreendida entre 2-5% enquanto o padrão dinitrato de issorbida apresentou valor em torno de 10%.

Para a hidrazona do AAS contendo o furoxano fenílico e benzofuroxano, a quantidade de nitrito gerada não foi definida pois o composto apresentou coloração que interferiu na leitura das amostras.

5. Conclusão

Os derivados furoxânicos foram sintetizados e caracterizados por métodos analíticos como espectrometria no infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN). A obtenção dos derivados furoxânicos apresentou elevado rendimento variando entre 60-90%. Os furoxanos tiveram caracterizadas as faixas de fusão.

Para obtenção da hidrazida do AAS foi tentado 3 metodologias sintéticas: a) conversão da função ácido carboxílico em éster e posterior conversão do éster em hidrazida explorando reações tipo SN2 usando a hidrazina como nucleófilo; b) formação da hidrazida usando agentes acoplantes; c) obtenção do cloreto de acila do AAS e posterior reação com hidrazina. Das 3 metodologias, a segunda mostrou ser a mais eficiente por se tratar de um método sintético mais brando quando comparado às outras duas condições. Os métodos a e c para obtenção da hidrazida levaram a hidrólise do grupo éster do AAS.

As hidrazonas (produtos finais) foram obtidas em elevados rendimentos usando meio etanólico e catálise ácida. Os compostos foram identificados por

Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e tiveram suas faixas de fusão caracterizadas. Realizou-se ainda identificação por espectrofotometria no infravermelho. Através desta técnica foi possível identificar a função imina em aproximadamente 1610 cm⁻¹ em todos os produtos finais obtidos.

O ensaio para avaliação da capacidade de doação de NO foi realizado com os produtos finais. Somente um dos derivados pode ter caracterizado a capacidade de doação de NO pois devido à coloração dada ao meio pelos outros compostos houve interferência na avaliação dos resultados.

Perspectivas

Os produtos finais estão sendo caracterizados por métodos analíticos como RMN e seus resultados devem ser obtidos em breve.

Realizar-se-á avaliação da atividade antiagregante plaquetária dos produtos finais (hidrazonas) obtidos. Pretende-se ainda, avaliar a atividade analgésica e anti-inflamatória dos derivados finais obtidos.

Deve-se avaliar através de outras técnicas, como por exemplo a voltamétrica, a capacidade de doação de óxido nítrico.

6. Referências Bibliográficas

ADAMS, L. L.; LUZZIO, F. A. J. Org. Chem., v. 54, p. 5387-5390, 1989.

ALDUNATE J., VIAL M. Tratamiento antitrombótico. *En: Palomo I, Pereira J, Palma J*, Hematología: fisiopatología y diagnóstico. **Talca: Universidad de Talca**, 2005.

APPLEMAN, M., TERASAKI, W. Adv. Cyclic Nucleotide Res. 5, 153, 1975.

ARAUJO, L. F., SOEIRO, A. M., FERNANDES, J. L., SERRANO JUNIOR, C. V. Eventos Cardiovasculares: Um Efeito de Classe dos Inibidores de COX-2 (Cardiovascular Events: A Class Effect by COX-2 Inhibitors). **Arq. Bras. Cardiol.** 85 (03), 2005.

ASDRUBAL, F., WESCHENFELDER, R. F. Uso dos aniagregantes plaquetários no acidente vascular encefálico isquêmico. **Rev. Bras. Neurol.** 37 (3/4), 23-28, 2001.

BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos, **Artmed Ed. Ltda.** 2001.

BARREIRO, E.J., FRAGA, C.A M., MIRANDA, A L.P., RODRIGUES, C.R. A química medicinal de n-acilidrazona: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e anti-trombóticos. **Quím. Nova.** 25 (01), 129-148, 2002.

BARRETO, R. L., CORREIA, C. R. D., MUSCARÁ, M. N. Óxido Nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Quím. Nova.** 28 (06), nov. – dez, 2005.

BUCHANA M. R., BRISTER S. J. Individual variation in the effects of ASA on platelet function: implications for the use of ASA clinically. **Can J Cardiol.** 11(3): 221-227, 1995.

CENA, C. et al. **J. Med. Chem.** 46, 747-754, 2003.

CERECETTO, H.; PORCAL, W. **Mini Rev. Med. Chem.**, v. 5, p.57-71, 2005

CERQUEIRA, N. F., YOSHIDA, W. B. Óxido Nítrico. Revisão. **Acta Cir. Bras.** 17 (06), 2002. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502002000600011>>

COHEN, R. A., VANHOUTTE, P. M. Endothelium-Dependent Hyperpolarization–Beyond Nitric Oxide and Cyclic GMP. **Circulation.** 92: 3337-49, 1995.

CONGER, F.D. Endothelial regulation of vascular tone. **Hosp Pract**, 15: 117-126, 1994.

CUNHA, A.C. et al. **Bioorg. Med. Chem.**, v.11, p. 2051–2059, 2003.

FISCHER, E.; *Ber. Dt. Chem. Ges.* 27, 2985, 1894.

FONSECA, C. S., VILORIA, M. I. V., REPETTI, L. Alterações fetais induzidas pelo uso de antiinflamatórios durante a gestação. **Cienc. Rural.** 32 (03), 2002. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000300027>>

FRITZGERALD, G.A. Cardiovascular pharmacology of nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and coxibs: clinical considerations. **Am J Cardiol.** 89: 26-32, 2002.

FURTADO, R. G., NUNES, C. G. O, RASSI, L., MELATO, L. H., SARA, L. BORGES, M. M., TURCO, F. P. Plaque of Atherosclerosis in Aorta: Review on Atherogenesis, Formation of Plaque, Clinical Significance, Methods of Imaging and Treatment. **Revista Brasileira Ecocardiograma.** 22 (2): 27-39, 2009.

GABRIEL, S. A., BETELI, C. B., TANIGUCHI, R. S., TRISTÃO, C. K., GABRIEL, E. A., JOB, J. R. P. P. Resistência à aspirina e aterotrombose: Aspirin resistance and atherothrombosis. **Rev Bras Cir Cardiovasc.** 22 (01), jan. - mar, 2007.

GOTTLIEB, M.G.V., BONARDI G., EMÍLO H. M. Physiopathology and inflammatory aspects of atherosclerosis . **Scientia Medica**. 15 (3), 2005.

GREENGARD, P. Adv. Cyclic Nucleotide Res. 5, 585, 1975.

GRUNDY, S.M., PASTERNAK, R., GREENLAND, P., SMITH JUNIOR, S., FUSTER, V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. **Circulation**. 100: 1481-92, 1999.

HILARIO, M.O.E., TERRERI, M.T., LEN, C.A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase 2 inhibitors. **J Pediatr**. 82(05), S206-12, Rio de Janeiro, 2006.

JORGE, S. D. Síntese e avaliação da atividade antibacteriana de derivados 5-metilsulfonil-2-tiofilidênicos e de derivados 5(6)-benzofuroxânicos frente a cepas padrão e multirresistentes de *Staphylococcus aureus*., 2007- dissertação de mestrado.

KUO, P. C., SCHROEDER R. A. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. **Ann Surg**. 221: 220-35, 1995.

LEHNINGER, A. Princípios da bioquímica. **Sarvier**. 3, 2002.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**. 420: 868-74, 2002.

LIMA, L.M. et al. Eur. J. Med. Chem. v. 43, p. 348-356, 2008.

LYONS, C.R. The role of nitric oxide in inflammation. **Adv Immunol**, 60: 323-355, 1995.

MAHY, J. P., GASPARD, S., MANSURY, D. Biochemistry. 32, 4014, 1993.

MANUAL MERCK (Edição de Saúde para a Família) (2009), <http://www.manualmerck.net/>

MARQUES, L. J. Tromboembolismo pulmonar. **Medicina, Ribeirão Preto**. 31: 257-265, abr./jun. 1998.

MARQUES, L. J., MELO, R. E. V. A.; SILVA, C. O.; SILVA, L. O.; MELO, M. M. V. A.; LINS, E. M. Trombose Venosa Profunda. **International Journal of Dentistry**. 1(2): 73-79, 2006.

MASON P. J., JACOBS A. K., FREEDMAN J. E. Aspirin resistance and atherothrombotic disease. **J. Am. Coll. Cardiol**. 46(6): 986-93, 2005.

MCKEE S. A., SANE D.C., DELIARGYRIS E.N. Aspirin resistance in cardiovascular disease: a review of prevalence, mechanisms, and clinical significance. **Thromb Haemost**. 88(5): 711-5, 2002.

MICHELSON, A. D. Nature Reviews Drug Discovery: Antiplatelet therapies for the treatment of cardiovascular disease. 9, 154-169, 2010.

MONCADA S., PALMER R. M., HIGGS E. A. Nitric oxide: physiology pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol Rev.** 43: 109-142, 1991.

MONGE, A. et al. Pharmazie. v.53, n.11, p. 758-764, 1998.

MORPHY, R., RANKOVIC, Z. Designed Multiple Ligands: An emerging drug discovery paradigm. **J. Med. Chem.** 48 (21), 6523-6543, 2005.

PALOMO I. F., CONSTANZA I., TORRES U., MOORE-CARRASCO, R. E., ALARCÓN, M. A., MARAGAÑO P. J. Antiagregantes Plaquetarios: Mecanismos de Acción Y Riesgos Asociados Al Uso Platelet Aantiaggregants: Mechanisms Of Action And Use Asocied Risks **Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, 133-143, 2009.

PAR, J. Endotélio, lipídes e aterosclerose. **Arq Bras Cardiol.** 68 (2): 12934, 1997.

REIS, S. L. G. B., ALMEIDA, V. M., ALMEIDA, G. C., BOAVIAGEM, K. M., MENDES, C. C. D. B., FARIA, A. R., GÓES, A. J. S., MAGALHÃES, L. R., REZKALLA S. H., BENZ M. Antiplatelet therapy from clinical trials to clinical practice. **Clin. Med. Res.** 01 (02): 101-104, 2003.

SANTOS FILHO, R. D., MARTINEZ, T. L. R. Fatores de Risco para Doença Cardiovascular: Velhos e Novos Fatores de Risco, Velhos Problemas! **Arq Bras Endocrinol Metab.** 46 (3), São Paulo, 2002.

SANTOS, J. L. **Tese de doutorado**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 129, 2009.

SCHARTZ, C.J., VALENTE, A.J, SPRAGUE E.A. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. **Clin Cardiol.** 14: 11-6, 1991.

SIEGEL-AXEL D., LANGER H., LINDEMANN S., GAWAZ M. Role of platelets in atherosclerosis and inflammation. **Med Klin.** 101 (6): 467-475, 2006.

SILVA, T. G. Síntese e avaliação preliminar da atividade antinociceptiva de novas isoxazolil-aril-hidrazonas. **Quím. Nova.** 34 (01), 2011.

TODESCHINI, A. R., MIRANDA, A. L. P.; SILVA, K. C.; PARRINI, S. C., BARREIRO, E. J., **Eur. J. Med. Chem.** 33, 189, 1998; Küçükgüzel, S. G.; Rollas S.; *Il Farmaco* **2002**, 57, 583; Dimmock, J. R.; Vashishtha, S. C.; Stables, J. P.; *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 241; Çakir, B.; Yildirim, E.; Ercanli, T.; Erol, K.; Sahin, M. F.; *Il Farmaco* **1999**, 54, 842.

VANHOUTTE P. M. Endothelial control of vasomotor function - From health to coronary disease. **Circ J.** 67: 572-575, 2003.

VERLI, H., BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: A flexibilidade dos ligantes e receptores. **Quím. Nova.** 28 (01), 95-102, 2005.

VIZIOLI, E.O. et al, PCT/BR 2009/0409, patente depositada em 09 de abril de 2009.

WEBER, A., CASINI, A.; HEINE, A.; KUHN, D.; SUPURAN, C.T.; SCOZZAFAVA, A.; KLEBE, G. Unexpected nanomolar inhibition of carbonic anhydrase by COX-2-selective celecoxib: New pharmacological opportunities due to related binding site recognition. **J. Med. Chem.** 46, 550-557, 2004.

WHO (World Health Organization) (2011), <http://www.who.int>

ZAFAR, M. U. et al. J. Thromb. Haemost. v.5, p. 1195–1200, 2007.

ZAGO, A. S., ZANESCO, A. Óxido Nítrico, Doenças Cardiovasculares e Exercício Físico: Nitric Oxide, Cardiovascular Disease and Physical Exercise. **Arq. Bras. Cardiol.** 87 (06), 2006.